

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan pada pembuatan puding ikan gabus terdiri dari dua bagian yaitu bahan untuk pembuatan puding ikan gabus dan analisa sampel. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan puding ikan gabus yaitu ekstrak jahe, tepung ikan gabus, tepung agar, gula, garam, vanili, air dan essence. Jahe yang digunakan adalah jenis jahe emprit. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisa antara lain aquades, kertas label, kertas saring. Bahan kimia yang digunakan dalam analisa proksimat adalah H_2SO_4 pekat, tablet kjeldahl, aquades, indikator pp, NaOH pekat, H_3BO_3 , indikator MO, H_2SO_4 . Bahan yang digunakan untuk analisa albumin yaitu *buffer succinate*, *brom cresol green*, *Bij 53*, dan aquadest.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan dalam pembuatan puding ikan gabus terdiri dari alat untuk pembuatan puding ikan gabus, ekstraksi jahe dan analisa sampel. Alat yang digunakan dalam pembuatan puding ikan gabus adalah panci, sutil, kompor gas, tabung gas, timbangan digital, kulkas, cup puding. Alat untuk ekstraksi jahe yaitu blender, pisau dan kain saring. Sedangkan, alat untuk analisa albumin dan proksimat yang digunakan antara lain, botol film, oven, desikator, satu set alat *Soxhlet*, *Spektrofotometer*, *muffle*, satu set alat *Kjeldahl*.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Eksperimen adalah bagian dari penelitian kuantitatif yang terdiri dari

variabel sehingga dapat ditemukan sebab akibat yang sengaja ditimbulkan dari variabel tersebut. Eksperimen yang dilakukan dalam penelitian pembuatan puding ikan gabus ini adalah penambahan konsentrasi ekstrak jahe yang berbeda dan lama penyimpananyang berbeda. Perlakuan ini digunakan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak jahe dan lama penyimpanan terhadap kadar protein, albumin puding ikan gabus, parameter yang diamati adalah uji proksimat meliputi kadar protein, kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar albumin, uji organoleptik (bau, rasa, warna), sineresis, teksturdan TPC.

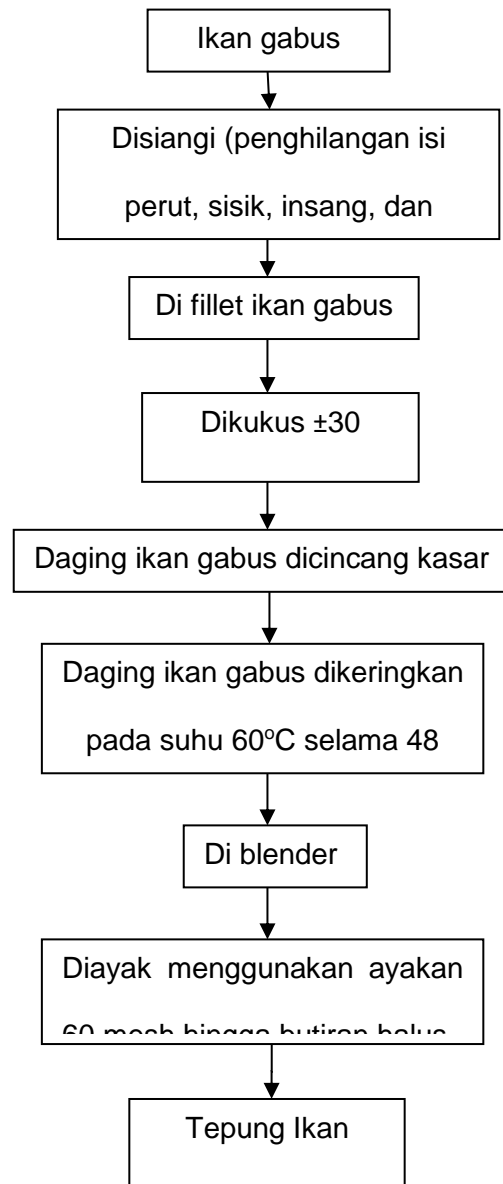
3.3 Pelaksanaan Penelitian

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah penambahan konsentrasi ekstrak jahe yang berbeda. Konsentrasi ekstrak jahe yang digunakan pada penelitian pendahuluan yaitu 5%, 10% dan 15%. Dengan lama penyimpanan hari 0, hari 1, hari 3, hari 6. Parameteryang diamati TVB dan pH . Kemudian mendapatkan hasil terbaik dari penelitian pendahuluan adalah penambahan ekstrak jahe 10%. Hal ini didasari pada penelitian yang telah dilakukan oleh Febriyanti *et.,al*(2015) tentang karakteristik sirup jahe nira kelapa terfermentasi delapan jam (kajian jenis dan konsentrasi sari jahe), dimana pada penelitian tersebut diketahui konsentrasi penambahan ekstrak jahe dengan 3 level (5%, 10%, 15%) dengan perlakuan terbaik dihasilkan pada konsentrasi 10%.

3.3.1 Penelitian Pendahuluan1

Penelitian pendahuluan bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi terbaik ekstrak jahe. Penelitian pendahuluan ada dua tahap, yaitu yang pertama membuat tepung ikan gabus dan yang kedua membuat ekstrak jahe. Cara pembuatan tepung

ikan gabus berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Afianti (2015), cara pembuatan tepung ikan gabus adalah yang pertama ikan gabus dimatikan dengan cara dipukul kepalamenggunakan benda keras. Kemudian dibersihkan sisik insang dan isi perut dari tubuh ikan. Lalu dilakukan pencucian menggunakan air mengalir agar menghilangkan kotoran dan darah secara langsung sehingga tidak terjadi kontaminasi pada daging ikan. Selanjutnya ikan gabus di *fillet* dan dipisahkan dari duri, tulang dan kulitnya. Setelah itu, daging ikan yang sudah di *fillet* di kukus selama 30 menit. Kemudian daging ikan gabus yang telah dikukus dicincang kasar dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 48 jam. Daging ikan gabus kering lalu dihancurkan dengan blender sehingga menjadi butiran kasar. Lalu butiran kasar tersebut diayak menggunakan ayakan 60 mesh dan diperoleh tepung ikan gabus. Diagram alir pembuatan tepung ikan gabus dapat dilihat pada Gambar 3.

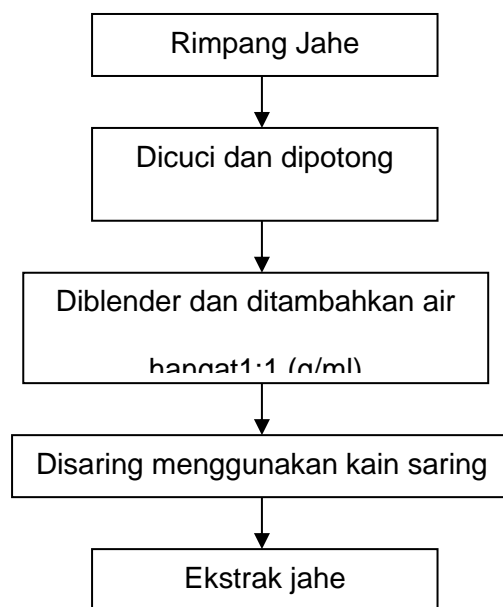


Gambar 3. Diagram alir pembuatan tepung ikan gabus menurut Afianti (2015).

3.3.2 Penelitian Pendahuluan 2

Penelitian pendahuluan 2 adalah membuat ekstrak jahe. Pembuatan ekstrak jahe dilakukan berdasarkan metode yang digunakan oleh Harahapet (2011) yaitu jahe dicuci dan dibersihkan dari tanah. Lalu kupas jahe dari kulitnya dan dipotong

kecil-kecil agar memudahkan saat pengolahan. Rimpang jahe tersebut ditimbang dan diblender dengan ditambahkan air hangat (jahe:air hangat = 1:1 g/ml). Lalu setelah bentuknya seperti bubur selanjutnya disaring menggunakan kain saring. Dan didapatkanlah ekstrak jahe. Diagram alir pembuatan ekstrak jahe dapat dilihat pada Gambar 4.



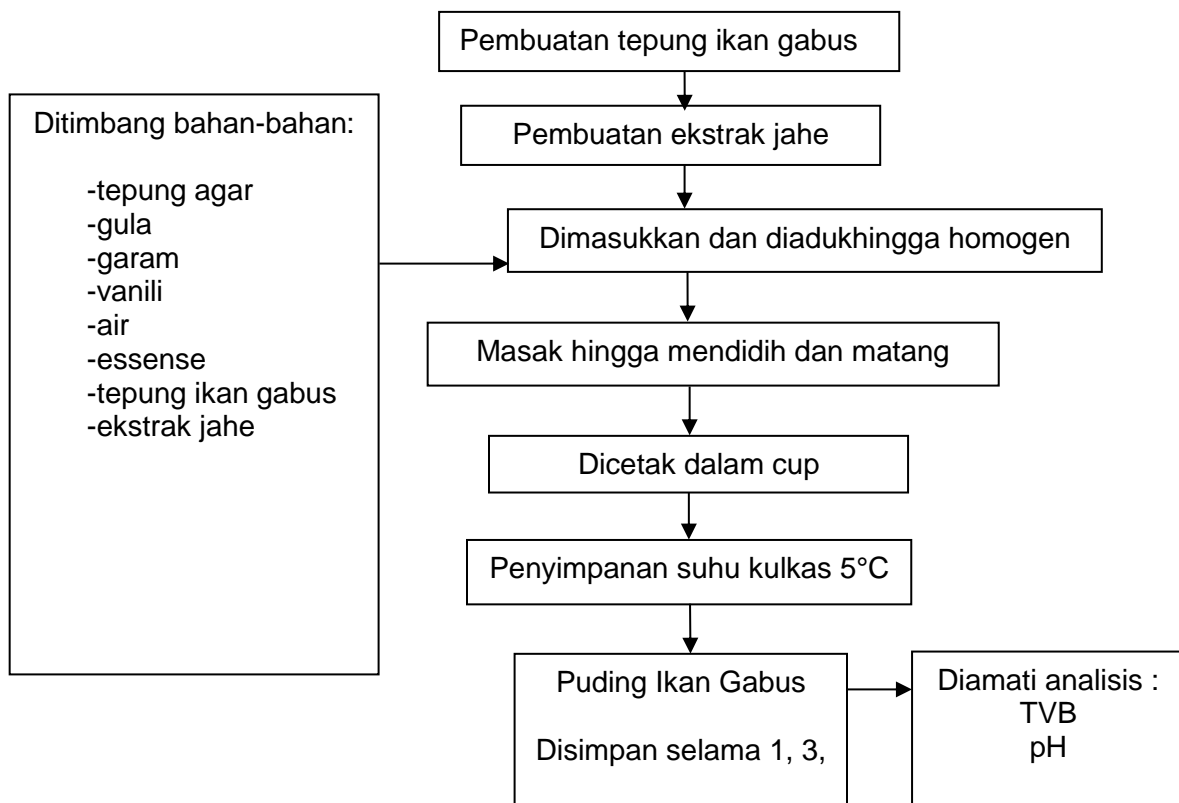
Gambar 4. Diagram pembuatan ekstrak jahe menurut Harahap *et., al* (2016)

a. Formulasi Penelitian Pendahuluan Puding Ikan Gabus

Bahan tambahan pada pembuatan puding ikan gabus antara lain tepung agar, tepung ikan gabus, air, gula, garam, vanili, air, essence. Formulasi pembuatan puding ikan gabus pada penelitian pendahuluan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fransiska *et., al* (2014) yang telah dimodifikasi, dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Formulasi Penelitian Pendahuluan Puding Ikan Gabus

No	Bahan	Perlakuan / gram		
		5%	10%	15%
1.	Air (g)	45	40	35
2.	Ekstrak jahe (g)	5	10	15
3.	Tepung ikan gabus (g)	10	10	10
4.	Garam (g)	1,5	1,5	1,5
5.	Vanili (g)	1	1	1
6.	Tepung agar (g)	7,4	7,4	7,4
7.	Vanilla essence (g)	0,1	0,1	0,1
8.	Gula (g)	30	30	30
	Total	100 g	100 g	100 g

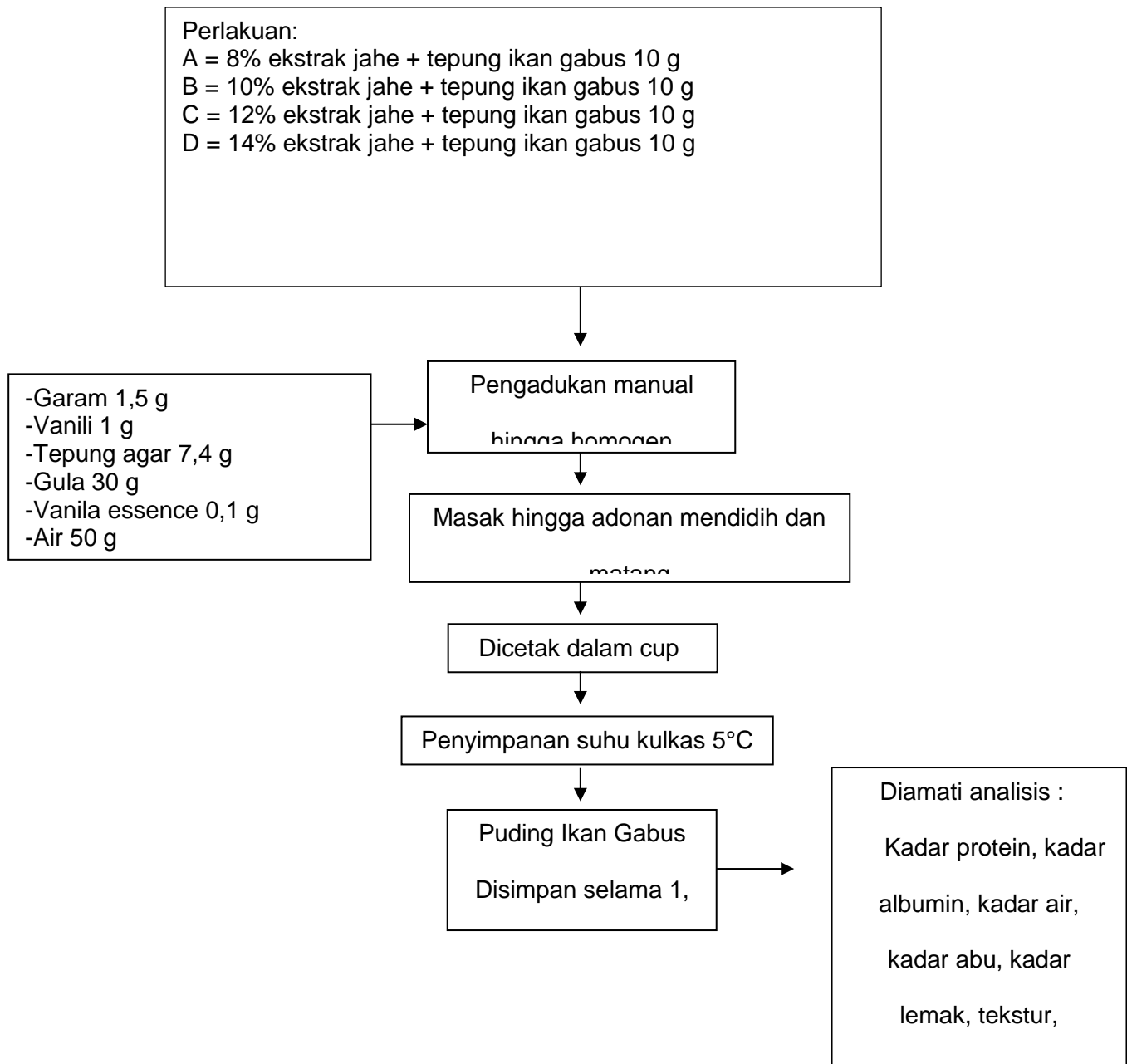


Gambar 5. Diagram alir penelitian pendahuluan pembuatan puding ikan gabus menurut Fransiska *et., al* (2014) yang telah dimodifikasi.

Berdasarkan hasil terbaik dari penelitian pendahuluan, maka konsentrasi ekstrak jahe pada penelitian utama yaitu 8% (A1), 10% (A2), 12% (A3) dan 14% (A4) (b/b) dari berat puding. Dan lama penyimpanan yang digunakan yaitu 1 hari (B1), 3 hari (B2) dan 6 hari (B3).

3.4 Penelitian Utama

Penelitian utama berdasarkan hasil terbaik dari penelitian pendahuluan yaitu 10% maka konsentrasi ekstrak jahe pada penelitian utama yaitu 8% (A1), 10% (A2), 12% (A3) dan 14% (A4) (b/b) dari berat puding. Parameter yang diuji adalah kadar protein, kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar albumin, organoleptik scoring dan hedonik (aroma, rasa, warna), sineresis, tekstur dan tpc. Diagram alir penelitian utama puding ikan gabus menurut Fransiska *et.,al* (2014) yang telah dimodifikasi dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6.Diagram alir penelitian utama puding ikan gabus menurut Fransiska *et.,al* (2014) yang telah dimodifikasi.

Tabel 7. Formulasi Penelitian Utama Puding Ikan Gabus

No	Bahan	Perlakuan				
		0%	8%	10%	12%	14%
1.	Air	50 g	42 g	40 g	38g	36 g
2.	Ekstrak jahe	0 g	8 g	10 g	12g	14 g
3.	Tepung ikan gabus	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g
4.	Garam	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g
5.	Vanili	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
6.	Tepung agar	7,4 g	7,4 g	7,4 g	7,4 g	7,4 g
7.	Vanilla essence	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g
8.	Gula	30 g	30 g	30 g	30 g	30 g
Total		100 g	100 g	100 g	100 g	100 g

Sumber : Fransiska *et.,al* (2014) *modifikasi

b. Formulasi Penelitian Utama Puding Ikan Gabus

Pembuatan puding ikan gabus dilakukan dengan cara membuat tepung ikan gabus dan ekstrak jahe terlebih dahulu yang telah dilakukan pada penelitian pendahuluan. Selanjutnya pembuatan puding ikan gabus pertama ditimbang bahan-bahan puding yaitu tepung ikan gabus, tepung agar, gula, garam, vanili, air, essence dan ekstrak jahe dengan perlakuan yang berbeda yaitu 8%, 10%, 12%, 14%. Lalu campurkan semua bahan ke dalam panci secara perlahan, diaduk sampai homogen dan mendidih hingga adonan benar-benar matang. Kemudian ditambahkan essence secukupnya 0,1 g. Selanjutnya diamkan sebentar agar adonan puding tidak terlalu panas dan tuang adonan puding ke dalam cetakan cup puding. Dan disimpan pada suhu kulkas.

3.5 Rancangan Penelitian

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ialah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial 2 jalur. Perlakuan percobaan pada penelitian ini meliputi perlakuan konsentrasi yaitu berbagai perbedaan konsentrasi jahe (A) dan lama waktu penyimpanan (B). Suatu percobaan disebut percobaan faktorial bila perlakuannya terdiri dari kombinasi lengkap antar level (antar taraf) dari dua faktor atau lebih dan masing-masing faktor terdiri dari dua taraf atau lebih. Pada faktor konsentrasi jahe (A) terbagi menjadi tiga taraf yaitu konsentrasi jahe 8% (A1), konsentrasi jahe 10% (A2), konsentrasi jahe 12% (A3), konsentrasi jahe 14% (A4). Pada faktor lama waktu penyimpanan (B) terbagi menjadi tiga taraf yaitu 1 hari (B1), 3 hari (B2) dan 6 hari (B3). Menurut Hijriy (2015), suhu yang biasa digunakan untuk penyimpanan bahan pangan pada pendinginan adalah 5-10 °C dimana lama penyimpanan akan tahan hingga 5-6 hari. Pengawetan suhu dingin hanya bersifat menghambat pertumbuhan bukan untuk membunuh atau menghentikan mikroorganisme sama sekali.

Interaksi kedua faktor percobaan dilakukan dengan tiga kali ulangan. Hal tersebut sesuai dengan persamaan :

$$(n-1)(r-1) \geq 15$$

Dimana n = perlakuan

r = ulangan

sehingga banyaknya ulangan dapat dihitung sebagai berikut:

$$(12-1)(r-1) \geq 15$$

$$11r - 11 \geq 15$$

$$11r \geq 26$$

$$r \geq 2,36 \text{ (3 kali ulangan)}$$

Metode pengujian data yang digunakan adalah analisa keragaman (ANOVA) dimana jika terdapat pengaruh yang nyata atau sangat nyata maka akan dilanjutkan uji lanjut Tukey dengan aplikasi *software* SPSS 16. Model statistika yang digunakan dalam penelitian tahap pertama sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} = Hasil pengamatan untuk faktor A taraf ke-I, faktor B taraf ke-j, pada ulangan ke –k

μ = Rataan umum

A_i = Pengaruh faktor A pada taraf ke-i

B_j = Pengaruh faktor B pada taraf ke-j

$(AB)_{ij}$ = Interaksi antara A dan B pada faktor A taraf ke-I, faktor B taraf ke-j

ε_{ijk} = Galat percobaan untuk faktor A taraf ke-I, faktor ke B taraf ke-j pada ulangan ke-k

Tabel 8. Model Rancangan Percobaan Penelitian

Perlakuan		Perlakuan Kombinasi	Ulangan			Rata-rata
A	B		1	2	3	
A1	B1	A1B1	A1B1.1	A1B1.2	A1B1.3	
	B2	A1B2	A1B2.1	A1B2.2	A1B2.3	
	B3	A1B3	A1B3.1	A1B3.2	A1B3.3	
A2	B1	A2B1	A2B1.1	A2B1.2	A2B1.3	
	B2	A2B2	A2B2.1	A2B2.2	A2B2.3	
	B3	A2B3	A2B3.1	A2B3.2	A2B3.3	
A3	B1	A3B1	A3B1.1	A3B1.2	A3B1.3	
	B2	A3B2	A3B2.1	A3B2.2	A3B2.3	
	B3	A3B3	A3B3.1	A3B3.2	A3B3.3	
A4	B1	A4B1	A4B1.1	A4B1.2	A4B1.3	
	B2	A4B2	A4B2.1	A4B2.2	A4B2.3	

B3	A4B3	A4B3.1	A4B3.2	A4B3.3
----	------	--------	--------	--------

Desain rancangan percobaan pada penelitian tahap pertama adalah

A1B1 = penambahan konsentrasi jahe 8%, lama penyimpanan 1 hari

A1B2 = penambahankonsentrasi jahe 8%, lama penyimpanan 3 hari

A1B3 = penambahankonsentrasi jahe 8%, lama penyimpanan 6 hari

A2B1 = penambahankonsentrasi jahe 10%, lama penyimpanan 1 hari

A2B2 = penambahankonsentrasi jahe 10%, lama penyimpanan 3 hari

A2B3 = penambahankonsentrasi jahe 10%, lama penyimpanan 6 hari

A3B1 = penambahankonsentrasi jahe 12%, lama penyimpanan 1 hari

A3B2 = penambahankonsentrasi jahe 12%, lama penyimpanan 3 hari

A3B3 = penambahankonsentrasi jahe 12%, lama penyimpanan 6 hari

A4B1 = penambahankonsentrasi jahe 14 %, lama penyimpanan 1 hari

A4B2 = penambahankonsentrasi jahe 14%, lama penyimpanan 3 hari

A4B3 = penambahankonsentrasi jahe 14 %, lama penyimpanan 6 hari

3.5.1 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan, dengan uji F pada taraf 5% dan 1 % dan jika didapatkan hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf 5%.

3.6 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan pada penelitian puding ikan gabus adalah kadar protein, kadar air, kadar lemak, kadar abu, kadar albumin, uji organoleptik skoring dan hedonik (aroma, rasa, warna, tekstur), sineresis, tekstur dan tpc.

3.7 Prosedur Analisa Parameter

3.7.1 Analisa Kadar Albumin

Analisa kadar albumin menurut Chasanah *et.,al* (2015) sebagai berikut: pertama disiapkan 2 ml sampel ditambah dengan 8 ml reagen biuret, kemudian dikocok. Setelah itu dipanaskan pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian dinginkan lalu ukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 550 nm dan catat absorbansinya. Kemudian dihitung dengan rumus:

$$\text{ppm} = \frac{\text{absorbansi sampel}}{0,0000526 A}$$

$$\% = \frac{\text{ppm} \times 25}{\text{g sampel} \times 10^6} \times 100\%$$

Pembuatan reagen Biuret:

1. 0,1500 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 25 ml aquades
2. 0,6000 g Na K-tartat + 25 ml aquades

Reagen 1 dan 2 dicampur ditambah dengan 30 ml NaOH 10%, aduk kemudian encerkan menjadi 100 ml larutan. Kocok sampai homogen.

3.7.2 Analisa Kadar Air

Kadar air menurut Winarno (2004), metode yang digunakan dalam penentuan kadar air adalah cara pemanasan. Prinsip metode ini adalah sampel dipanaskan pada suhu (100-105)°C sampai diperoleh berat yang konstan. Pada suhu ini semua

air bebas (yang tidak terikat pada zat lain) dapat dengan mudah diuapkan, tetapi tidak demikian halnya dengan air terikat. Sampel dihaluskan dan ditimbang sebanyak 1-2 gram dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya. Setelah itu sampel dikeringkan didalam oven dengan suhu 105 °C selama 3-5 jam tergantung bahannya. Selanjutnya dimasukkan di dalam desikator dan ditimbang. Dipanaskan lagi di dalam oven selama 30 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Perlakuan diulangi sampai berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg). Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan.

$$\% \text{ Wb} = \frac{(A + B) - C}{B} \times 100\%$$

Keterangan :

Wb = Kadar air basah

A = Berat botol timbang

B = Berat sampel

C = Berat botol timbang dan sampel sesudah dioven

3.7.3 Analisa Kadar Protein

Kadar protein menurut Muntheet.,*al* (2016), pengukuran kadar protein total dilakukan dengan cara makro kjeldahl yang dimodifikasi. Dihaluskan bahan dan ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan dalam labu Kjeldahl. Kemudian ditambahkan 7,5 gram K₂S₂O₄ dan 0,35 gram HgO dan akhirnya ditambahkan 15 ml H₂SO₄ pekat. Dipanaskan semua bahan pada labu kjeldahl dalam ruang asam sampai berhenti berasap. Teruskan pemanasan sampai api besar dan mendidih dan cairan menjadi jernih. Teruskan pemanasan tambahan lebih kurang 1 jam. Ditunggu bahan sampai dingin.

Kemudian ditambahkan 100 ml aquades dalam labu kjeldahl yang didinginkan dalam air es dan beberapa lempeng Zn, juga ditambahkan 15 ml larutan K₂S 4% (dalam air).Selanjutnya ditambahkan secara perlahan-lahan larutan NaOH 50% sebanyak 50 ml yang sudah didinginkan dalam almari es.Dipanaskan labu kjeldahl perlahan-lahan sampai dua lapisan cairan tercampur, kemudian dipanaskan dengan cepat sampai mendidih.

Distilat kemudian tampung dalam Erlenmeyer yang telah diisi 50 ml larutan standar HCl (0,1 N) dan 5 tetes indicator metal merah. Lakukan distilasi sampai distilat mencapai 75 ml. dititras distilasi dengan NaOH 0,1 N sampai warna kuning. Dilakukan pembuatan larutan blanko dengan cara yang samap tetapi sampelnya diganti dengan aquades. Kemudian dihitung %N dan % protein dengan rumus :

$$\% N = \frac{(\text{ml NaOH blanko} - \text{ml NaOH contoh})}{\text{gram contoh} \times 1000} \times 100 \times 14,008$$

$$\% \text{ Protein} = \% N \times \text{factor}$$

3.7.4 Analisa Kadar Lemak

Kadar lemak menurut Angelia (2016), pengukuran kadar lemak total yang telah dimodifikasi dengan metode *Soxhlet* adalah sebagai berikut:Sampel halus ditimbang sebanyak 2 gram kemudian dikeringkan hingga kering dengan menggunakan oven. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam *thimble* yang dapat dibuat dari kertas saring.Diatas sampel dalam *thimble*ditutup kapas bebas minyak agar partikel sampel tidak terbawa aliran pelarut.Dipasang labu godok beserta kondensornya.Diisi tabung ekstraksi dengan pelarut non polar sebanyak 1 ½ - 2 kali.Dipanasi tabung ekstraksi dengan penangas air. Lipida yang telah terkumpul pada labu godok di tuang pada botol timbang atau cawan porselen yang telah

diketahui beratnya kemudian pelarut diuapkan di atas penangas air sampai pekat. Dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C hingga berat konstan. Kemudian dihitung kadar lemak dengan rumus:

$$\text{Kadar Lemak} = \frac{(B - A)}{\text{Berat sampel (gr)}} \times 100\%$$

Dimana: A : berat botol timbang atau cawan porselen dengan lipida
B : berat botol timbang atau cawan porselen kosong

3.7.5 Analisa Kadar Abu

Kadar abu menurut SNI (2006), pengukuran kadar abu total dilakukan dengan metode drying ash. Sampel sebanyak 2-10 gram ditimbang pada krus porselin yang kering dan sudah diketahui bobotnya. Lalu diarakkan di atas nyala pembakaran dan diabukan dalam muffle pada suhu 550° C hingga pengabuan sempurna. Setelah itu didinginkan dalam deksikator dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Perhitungan kadar abu dilakukan dengan membandingkan berat abu dan berat sampel dikali 100%.

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{\text{berat akhir} - \text{berat krus porselin}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\%$$

3.7.6 Uji Organoleptik

Uji organoleptik yang akan dilakukan pada produk puding ikan gabus dengan penambahan berbagai konsentrasi jahe yang berbeda meliputi rasa, warna, aroma dan tekstur. Uji organoleptik yang dilakukan berdasarkan uji penerimaan hedonik dan skoring. Informasi ini dapat digunakan untuk pengembangan produk baru, memperbaiki produk atau proses dan berguna juga untuk pengendalian mutu rutin (Ebook pangan, 2006). Pada dasarnya suatu uji yang panelis dapat menilai senang

atau tidak senang terhadap sifat bahan yang diuji dengan dipengaruhi faktor yaitu senyawa kimia, konsentrasi, dan interaksi dengan komponen lain disebut sebagai uji organoleptik hedonik. Untuk mengetahui tingkat kesukaan menggunakan skala numerik dengan angka numerik menurut tingkat kesukaan (Hardoko *et.,al* 2017).

3.7.7 Analisis Sineresis

Sineresis selama penyimpanan diamati dengan suhu 10 C selama 24, 48 dan 72 jam. Masing-masing ditempatkan pada cawan untuk menampung air yang dibebaskan dari dalam gel selama penyimpanan. Sineresis dihitung dengan mengukur kehilangan berat selama penyimpanan dan dibandingkan dengan berat awal gel (Kuncari *et.,al* 2014).

3.7.8 Analisis Total Plate Count (TPC)

Uji TPC untuk menghitung jumlah koloni bakteri yang terdapat pada sampel. Tiap sampel diambil satu sampel biakan bakteri untuk ditumbuhkan pada media *Plate Count Agar* (PCA). Ambil 1 ml sampel yang akan diuji pindahkan dengan pipet steril kedalam larutan 9 ml aquades agar mendapatkan pengenceran bertingkat. 1 ml suspensi (media kultur) pada setiap pengenceran diinokulasikan pada cawan petri kosong. Tuangkan media agar yang masih cair. Lalu campurkan media dengan sampel dengan memutar cawan petri mengikuti pola angka delapan. Inkubasi sampel pada suhu 37 selama 2 hari. Kemudian jumlah TPC dihitung dengan coloni counter (Yunita *et.,al* 2015).

